報 文

〔*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol.69, No.11, pp.1491~1498, 1995〕高脂肪高コレステロール食投与ラットの血漿および
肝臓中の脂質に及ぼす杜仲葉抽出液の影響

仲佐輝子, 山口真由美, 沖中 靖, 目鳥幸一*, 高橋周七*

(同志社女子大学生活科学部, *日本大学薬学部)

平成 6 年 11 月 14 日 受 理

Effects of Du-Zhong Leaf Extract on Plasma and Hepatic Lipids in Rats Fed
on a High Fat Plus High Cholesterol DietTeruko NAKASA, Mayumi YAMAGUCHI, Osamu OKINAKA, Koichi METORI*,
and Shushichi TAKAHASHI**Faculty of Human Life and Science, Doshisha Women's College, Kamikyo-ku, Kyoto 602, Japan***College of Pharmacy, Nihon University, 7-7-1 Narashinodai, Funabashi, Chiba 274, Japan*

Male Wistar rats were fed on a 1% cholesterol plus 12% lard containing-diet for 2 weeks (HC group). Accumulation of cholesterol and triacylglycerol was observed in their livers. The level of cholesterol in plasma of HC group was increased to 1.6 times that in the normal (Nor) group, while the level of triacylglycerol was lower than that in the Nor group. Plasma lipoproteins in the HC group were characterized by an increase in very low density lipoprotein (VLDL)-plus low density lipoprotein (LDL)-cholesterol level and a decrease in high density lipoprotein (HDL)-cholesterol level.

Subsequently, the diet of the HC group was switched to a normal diet, and this group was divided into two groups of HCN and HCND. HCND group was orally administered Du-Zhong leaf extract, and HCN group was given tap water *ad libitum*. After feeding for two more weeks, the levels of plasma and hepatic cholesterol in the HCND group significantly decreased, and the level of hepatic triacylglycerol in this group was also lower than that in HCN group. The ratio of HDL-cholesterol to total cholesterol became greater by the administration of Du-Zhong leaf extract. On the other hand, the level of VLDL+LDL-cholesterol in HCND group was significantly lower than that in HCN group. While no difference of acetyl-CoA carboxylase activity in liver was observed among HCN, HCND, and Nor groups, the activity of fatty acid synthetase in HCND group was lower than that in the HCN group and was nearly equal to that in the Nor group. These results suggest that Du-Zhong leaf extract may have recuperative effects for hypercholesterolemia and fatty liver.

(Received November 14, 1994)

諸 言

杜仲 (*Eucommia ulmoides* OLIVER) の樹皮は、中国では古くよりすぐれた薬効をもつことから滋養健康
薬として用いられてきた。このことは、副作用のない
保健薬として中国古代の漢方薬の古典「神農本草経」、

† Abbreviations: TG, トリアシルグリセロール; Chol, コレステロール; VLDL, 超低比重リポタンパク質; T-chol, 総コレステロール; HDL, 高比重リポタンパク質, FFA, 遊離脂肪酸, PL, リン脂質, LDL, 低比重リポタンパク質; LPL, リポタンパク質リパーゼ

明の時代の「本草綱目」にも書かれており、朝鮮人参とともに五大漢方薬の1つとされている^(1,2)。

杜仲の葉を原料にした杜仲茶は独得の芳香と味を有し、滋養健康飲料として中国、韓国で古くから愛飲されてきた。わが国でも10数年前から長野県を中心に栽培され製茶加工されて販売されている。

杜仲葉はその化学的研究から杜仲の樹皮と類似した成分を含むことが報告され⁽³⁻⁶⁾、また薬理学的研究からこの水エキスのアルコール可溶部は毒性が少なく心臓冠動脈の血流量の増加、鎮痛作用^(7,8)、利尿、血圧降下作用⁽⁹⁾を有することが報告されている。また、難波ら⁽¹⁰⁾は杜仲葉水エキスをラットに10週間投与した報告の中で、副腎と精巣の体重に対する比重量は増大し、ズデン・ブラックB染色肝組織中のトリアシルグリセロール(TG)および類脂肪含量は、光学顕微鏡下の感光度から比較した結果、有意ではないが減少していたとしており、塩谷ら⁽¹¹⁾は産卵鶏に杜仲葉を23週間投与した結果、肝臓の脂肪化が低下したと報告している。近年、小川ら⁽¹²⁾は脳卒中易発症性高血圧自然発症ラットを用いて高脂肪・高コレステロール(chol)食に杜仲葉の粉末を添加して飼育し、超低比重リポタンパク質(VLDL)上昇抑制に基づく血清chol上昇抑制を観察したと報告している。また、Metoriら⁽¹³⁾はcholを負荷した高脂肪食とともに杜仲葉水抽出エキスを与えたラットにおいて血清chol、TGおよび肝臓中のTGが著しく減少したことを報告した。

そこで本研究では、血清および肝臓中のTGならびに血清chol上昇に対する杜仲葉水抽出エキスの抑制効果が、脂肪の吸収抑制によるものか、体内での脂質代謝への影響によるものかを明らかにするために、ラットに高脂肪高chol食を投与して2週間飼育したのち飼料を正常食に切り換え、同時に杜仲葉水抽出エキスを与えて血漿および肝臓中の脂質量の変化と脂質代謝に及ぼす影響を検討した。

実験方法

1. 実験材料 杜仲葉は、天日乾燥した秋田県産のものを使用した。細切りした杜仲葉100g当たり蒸留水1ℓを加え、1時間煮沸抽出し、冷却後ろ過した。ろ液を40℃以下で減圧下濃縮し、凍結乾燥した。これを葉1g当たり1mlの抽出液になるように調製したものを杜仲葉水抽出エキス原液とした。

2. 実験用飼料 飼料はラット一般飼育用飼料CE-2(日本クレア(株))を対照(Nor)食として、これにchol(和光純薬工業(株))1%、コール酸(和光純薬工業(株))0.25%、ラード(雪印乳業(株))12%を添加して固形飼料に調製したものをHC食として与えた。固形飼料の作製は日本クレア(株)に委託した。

3. 実験動物および飼育条件 5週齢のWistar系雄性(体重150g前後)ラット(SLC)は清水実験材料(株)(京都)より購入した。まず2日間Nor食で予備飼育したのち、Nor群8匹、HC群13匹を室温22±2℃、明暗サイクル12時間として2週間飼育した。この時点で各群より3匹ずつを無作為に選んで解剖した。

次に、HC群は5匹ずつ2群に分けてNor食に切り換え、飲料水として水道水を与えたHCN群と杜仲葉水抽出エキスを与えたHCND群としてさらに2週間飼育した。飼育期間中の飼料、飲料水としての水、杜仲葉水抽出エキスは自由摂取とした。杜仲葉水抽出エキスの投与方法は前日の摂飲料をもとに、1日体重1kg当たり杜仲葉3g(杜仲葉水抽出エキス原液3ml)を摂取するように水道水に添加して用いた。飼育初日、飼料切り換え日および飼育最終日の前日より1夜絶食させたラットの尾端より約0.5cmの部位をカミソリで切断し、末梢血をヘパリン処理したエッペンチューブに採取後、12,000rpmで10分間遠心分離して血漿を分離し、総chol(T-chol)とTGの測定を行った。飼料切り換え日には、無作為抽出した3匹を、また飼育最終日には残りの各群5匹ずつについて高比重リポタンパク質(HDL)-cholおよび遊離脂肪酸(FFA)の測定を行った。飼育後、エーテル麻酔下で心臓採血により屠殺し、肝臓、腎周囲脂肪組織、精巣周囲脂肪組織を摘出し重量を測定した。肝臓は冷生理食塩水で灌流して残存血液を除いたのち、分析に供するまで-70℃で保存した。

4. 血漿および肝臓中の脂質の測定 末梢血血漿中のT-chol、TGおよびFFAはそれぞれ市販の測定キットデータミナーTC555、TGS555、NEFA755(協和メデックス(株))により測定した。末梢血血漿HDL中のchol濃度はHDL-cholテストワコー(和光純薬工業(株))を用い、ヘパリンとマンガンを含む沈殿試液を加えてHDL以外のリポタンパク質を除いたのち、上清に含まれているcholを酵素法によって測定した。

また、肝臓中のchol含量はSperry-Webb法⁽¹⁴⁾によ

って遊離型とエステル型の分別定量を行った。また、TG 含量はアセチルアセトン比色法⁽¹⁵⁾により、リン脂質 (PL) 含量は Zilversmit と Davis の方法⁽¹⁶⁾に従って測定した。

5. 肝臓中の acetyl-CoA carboxylase 活性および fatty acid synthetase 活性の測定 Acetyl-CoA carboxylase 活性は Tanabe ら⁽¹⁷⁾の方法に従って測定した。すなわち、肝臓を5倍量の0.25 M ショ糖溶液でホモゲナイズしたのち、100,000×g で1時間遠心分離して得た上清に、硫酸を加えて40%飽和にした。生じた沈殿を遠心分離によって集めて5 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) で透析し、Sephadex G-50 カラムを通して低分子化合物を除いたのち、10 mM クエン酸カリウム、10 mM MgCl₂, 3.75 mM グルタチオン、0.75 mg/ml 牛血清アルブミンを含む50 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.5) 中で37°C、30分間予温したものを酵素液とした。酵素反応はMg²⁺とATPの存在下でacetyl-CoAとHCO₃⁻を反応させてmalonyl-CoAとし、この時生じたADPをピルビン酸キナーゼと乳酸デヒドロゲナーゼの共役系でNADHの減少を340 nmで測定した。分子吸光係数6.22×10³からNADHの減少量を求め、本酵素の1 unitを37°Cで1分間に1 μmolのNADHを減少させるのに要する酵素量として表した。

Fatty acid synthetase 活性は Nepokroeff ら⁽¹⁸⁾の方法に従って測定した。すなわち、肝臓ホモジネートの105,000×g上清を酵素液とし、反応液は全量1 ml中に0.5 M リン酸緩衝液 (pH 7.0)、0.1 mM EDTA・2 Na (pH 7.0)、1 mM 2-メルカプトエタノール、0.1

mM NADPH、0.033 mM acetyl-CoA、0.1 mM malonyl-CoA および酵素液が含まれるように調製し、30°Cで反応させ、340 nmにおけるNADPHの吸光度の減少を測定した。分子吸光係数6.22×10³からNADPHの減少量を求め、本酵素の1 unitを30°Cで1分間に1 μmolのNADPHを減少させるのに要する酵素量として表した。

6. 統計処理 得られた測定値は平均値±標準偏差 (Mean±SD)で示し、各群間における統計処理はt検定を用いてそれぞれの週のNor群と、また飼料切り換え前、すなわち2週目のNor群またはHC群と比較解析し、P<0.05以下を有意と判定した。

実 験 結 果

1. 体重および脂肪組織重量 体重は群間で有意な差はみられず、いずれも順調に成長した。

肝臓、腎周囲脂肪組織および精巣周囲脂肪組織重量は体重100 gあたりに換算してTable Iに示した。その結果、肝臓重量は2週間飼育後HC群でNor群の約1.3倍に増大し白色化していた。4週間後にはNor食に切り換えたHCN群およびHCND群では重量も減少し、色も赤味を帯びていた。腎周囲脂肪組織重量はいずれも有意差はなかった。精巣周囲脂肪組織重量は2週間後、4週間後とも群間で差は認められなかった。

2. 末梢血血漿中のコレステロール濃度および中性脂肪濃度の経時的変化 Chol濃度およびTG濃度の経時的変化をTable IIに示した。Chol濃度はHC群で急激に上昇しており、2週間飼育後でNor群の約1.6

Table I. Weight of liver and adipose tissues from rats fed test diets.

Group	liver (g/100 g B. W.)	Adipose tissues(g/100 g B. W.)	
		PRE	PEP
2 Weeks			
Nor	4.51±0.19	0.85±0.09	0.92±0.02
HC	5.79±0.12 ^a	0.93±0.02	0.91±0.04
4 Weeks			
Nor	3.20±0.22 ^a	0.84±0.24	1.10±0.09 ^b
HCN	3.96±0.24 ^{cd}	1.10±0.47	1.11±0.23
HCND	3.91±0.06 ^{cd}	0.85±0.17	1.04±0.07 ^c

PRE, perirenal adipose tissue; PEP, periepididymal adipose tissue; B. W., body weight. Values are Mean±SD.

Significant difference from 2 weeks Nor group, ^aP<0.001, ^bP<0.01.

Significant difference from 2 weeks HC group, ^cP<0.001.

Significant difference from 4 weeks Nor group, ^dP<0.001.

Table II. Total cholesterol and triacylglycerol in plasma of rats after feeding test diets.

Group	Total cholesterol(mg/dl)		
	0 Week	2 Weeks	4 Weeks
Nor	58.0± 6.9	63.4± 8.6	65.3±12.4
HC		101.3±11.9 ^a	
HCN			79.4± 2.7 ^c
HCND			56.3±17.0 ^c
Group	Triacylglycerol(mg/dl)		
	0 Week	2 Weeks	4 Weeks
Nor	69.2±10.8	117.2±22.3	100.2±23.0
HC		44.7± 7.8 ^b	
HCN			54.2± 5.6 ^{de}
HCND			67.9± 7.4 ^{cf}

Values are Mean±SD.

Significant difference from 2 weeks Nor group, ^aP<0.001, ^bP<0.01.

Significant difference from 2 weeks HC group, ^cP<0.001, ^d<0.05.

Significant difference from 4 weeks Nor group, ^eP<0.05.

Significant difference from 4 weeks HCN group, ^fP<0.05.

倍に増加した。その後 Nor 食に切り換えて飼育した結果、両群とも 2 週目の HC 群より有意に減少したが、HCN 群が 4 週目の Nor 群より有意差はなかったが高値を示したのに対し、HCND 群は Nor 群よりも若干低値を示した。

TG 濃度は HC 食 2 週間飼育で著しく低下し、Nor 群の約 38% であった。その後 Nor 食に切り換えて 2 週間飼育した結果、両群とも有意に上昇し、HCN 群は Nor 群の約 54% に HCND 群は約 68% になった。

3. 末梢血血漿中の遊離脂肪酸濃度, HDL-コレステロール濃度および VLDL-+低比重リポタンパク質 (LDL) -コレステロール濃度 末梢血血漿中の遊離脂肪酸濃度および HDL-chol 濃度を測定した結果と, T-chol から HDL-chol を差し引いて VLDL-+LDL-

chol を算出⁽¹⁹⁾ した結果を Table III に示した。

HDL-chol 濃度は HC 食で 2 週間飼育したところ、Nor 群より有意ではないが低値を示した。その後 Nor 食に切り換えて 2 週間飼育した HCN 群、HCND 群とも 2 週目の HC 群の値よりは高くなったが、4 週目の Nor 群よりは有意に低値を示した。

VLDL-+LDL-chol 濃度は HC 食で 2 週間飼育したところ、Nor 群の約 3 倍に増加した。その後 Nor 食に切り換えて 2 週間飼育した結果減少し、飼育最終日には HCN 群は Nor 群の約 2 倍であったのに対し、HCND 群は Nor 群に近い値になった。

FFA 濃度は HC 食で 2 週間飼育したところ、ばらつきが大きく有意差はなかったものの HC 群で高値を示した。その後 Nor 食に切り換えて 2 週間飼育した HCN

Table III. HDL-cholesterol, VLDL-+LDL-cholesterol and free fatty acid in plasma of rats after feeding test diets.

Group	HDL-chol(mg/dl)		VLDL-+LDL-chol(mg/dl)		Free fatty acid(μ Eq/l)	
	2 Weeks	4 Weeks	2 Weeks	4 Weeks	2 Weeks	4 Weeks
Nor	39.0± 0.4	41.3±5.3	24.4± 8.7	24.0±5.7	387.9± 45.5	516.2±79.6
HC	25.4±10.3		75.1±14.1 ^a		449.5±108.0	
HCN		31.7±3.4 ^d		47.6±2.0 ^{bc}		369.7±36.4 ^e
HCND		31.8±1.4 ^e		26.2±5.0 ^{bf}		434.1±12.0 ^g

Values are Mean±SD.

Significant difference from 2 weeks Nor group, ^a P<0.001.

Significant difference from 2 weeks HC group, ^bP<0.001.

Significant difference from 4 weeks Nor group, ^cP<0.001, ^dP<0.01, ^eP<0.05.

Significant difference from 4 weeks HCN group, ^fP<0.001, ^gP<0.05.

群は Nor 群より有意に低値を示したが、同時に杜仲葉水抽出エキスを与えた HCND 群は HCN 群より有意に高値を示し、Nor 群の値に近くなった。

4. 肝臓中の脂質含量 肝臓中の脂質含量を測定した結果を Table IV に示した。Chol 含量は HC 食で 2 週間飼育したところ肝臓 1 g 当たりでも、全肝臓当たりでも Nor 群の 10 倍近くの値を示し、その大半がエステル型であった。その後飼料を Nor 食に切り換え 2 週間飼育した結果、HCN 群では 1 g 当たりでほとんど変化がなかったが、杜仲葉水抽出エキスを与えた HCND 群では HCN 群の約 1/2 にまで低下した。

TG 含量は HC 食で 2 週間飼育したところ、1 g 当たりで約 2.3 倍に全肝臓当たりで約 3.5 倍に増加した。Nor 食に切り換えて 2 週間飼育した HCN 群ではあまり影響はみられなかったが、その時、杜仲葉水抽出エキスを与えた HCND 群では 2 週目の HC 群よりも有意に低下した。

PL 含量は HC 食で 2 週間飼育したところ、肝臓 1 g 当たりでも全肝臓当たりでも Nor 群とほとんど変わらなかったが、その後 Nor 食に切り換えた HCN 群、

HCND 群では Nor 群よりも低値を示した。

5. 肝臓中の acetyl-CoA carboxylase 活性および fatty acid synthetase 活性 4 週間飼育後の肝臓中の acetyl-CoA carboxylase 活性および fatty acid synthetase 活性を測定した結果を Table V に示した。

Acetyl-CoA carboxylase 活性は HCN 群、HCND 群とも Nor 群との差はほとんどみられなかった。これに対し、fatty acid synthetase 活性は杜仲葉水抽出エキスを与えた HCND 群が HCN 群より有意に低値を示し、Nor 群とほぼ同レベルに達した。

考 察

血液中の chol と TG 濃度が高い場合を臨床的に高脂血症という。実験的に高脂血症ラットを作成するには高脂肪高 chol 食投与^(20,21)、高 chol 食投与⁽²²⁻²⁶⁾、高果糖食投与^(27,28)などの方法が用いられている。本研究では高脂血症の状態を作成するために一般飼育用飼料 CE-2 に chol 1%、コール酸 0.25% およびラード 12% を添加したもの (HC 食) を用いた。HC 食で 2 週間飼育したラットの血漿中の脂質は、Nor 群に比べ T-chol

Table IV. Contents of cholesterol, triacylglycerol and phospholipid in liver of rats after feeding test diets.

Group	Cholesterol(mg/g of liver)			Triacylglycerol (mg/g of liver)	Phospholipid (mg/g of liver)
	Total	Free	Ester		
2 Weeks					
Nor	2.9± 0.5	1.5±0.6	1.3± 0.7	6.2± 2.4	23.3± 4.1
HC	23.3± 7.1 ^b	1.1±0.1	22.0± 6.6 ^b	14.3± 1.5 ^a	21.1± 0.8
4 Weeks					
Nor	3.4± 0.4	2.2±0.3	1.2± 0.2	9.4± 4.1	29.0± 2.6
HCN	23.0± 2.2 ^f	2.1±0.3 ^c	21.0± 2.6 ^f	12.7± 1.4	17.3± 1.0 ^{df}
HCND	12.4± 1.0 ^{fi}	1.1±0.2 ^{df}	11.7± 1.0 ^{fi}	10.4± 2.6 ^e	15.6± 1.8 ^{df}

Group	Cholesterol(mg/whole liver)			Triacylglycerol (mg/whole liver)	Phospholipid (mg/whole liver)
	Total	Free	Ester		
2 Weeks					
Nor	35.2± 5.0	18.9±7.2	16.3± 8.9	60.4± 5.3	286.3±43.6
HC	335.7±71.7 ^b	19.3±4.7	316.2±69.7 ^b	209.3±34.4 ^b	276.4±83.4
4 Weeks					
Nor	34.2± 2.4	22.4±2.1	12.1± 1.3	78.9±35.3	283.1±16.6
HCN	275.4±37.3 ^g	25.9±1.9 ^e	251.4±40.1 ^g	159.0±14.6 ^b	210.8± 7.4 ^f
HCND	166.7±30.9 ^{dji}	14.0±2.5 ^{gi}	147.6±22.0 ^{dgi}	130.4±30.6 ^e	196.1±30.5 ^g

Values are Mean±SD.

Significant difference from 2 weeks Nor group, ^aP<0.01, ^bP<0.05.

Significant difference from 2 weeks HC group, ^cP<0.001, ^dP<0.01, ^eP<0.05.

Significant difference from 4 weeks Nor group, ^fP<0.001, ^gP<0.01, ^hP<0.05.

Significant difference from 4 weeks HCN group, ⁱP<0.001, ^jP<0.01.

Table V. Effects of Du-Zhong leaf on the activity of fatty acid synthesizing enzymes in rats after feeding test diets.

Group	Acetyl-CoA carboxylase activity		Fatty acid synthetase activity	
	(unit*/g of liver)	(unit*/whole liver)	(unit**/g of liver)	(unit**/whole liver)
Nor	0.15±0.03	1.45±0.32	0.11±0.04	1.20±0.52
HCN	0.14±0.01	1.51±0.58	0.15±0.03	1.80±0.35
HCND	0.16±0.07	1.92±0.82	0.09±0.01 ^a	1.09±0.15 ^a

*One unit is defined as the amount of enzyme which was required to decrease 1 μ mol of NADH. **One unit is defined as the amount of enzyme which was required to decrease 1 μ mol of NADPH. Values are Mean±SD. Significant difference from HCN group, ^aP<0.05.

濃度は有意に, FFA 濃度は有意差はなかったもののかなり増加したが, 逆に TG 濃度は有意に低値を示した。また, 肝臓では chol と TG の蓄積からなる脂肪肝が観察された。肝機能の減退とともに VLDL の産生, 放出が抑制され, 脂肪肝になり, 血漿中の TG 濃度が低下したのではないかと考えられる。一方, 血漿中の chol 濃度が高値を示したのは, 肝臓から放出された VLDL 内の TG が肝外組織の LPL によって加水分解され, chol 豊富な LDL となり, そのほとんどは LDL 受容体を介して処理されていくが, 肝臓での LDL 受容体形成の抑制などによって LDL の処理が滞ったためではないかと思われる。これらの結果は, chol 1%およびラード, ショ糖各 15%を添加して 4 週間飼育したラットにおいて, 血漿中の T-chol 濃度は 2 倍以上に増加したが, TG 濃度は著しく低下したとする福與ら⁽²⁰⁾の結果と似ていた。

HC 食 2 週間飼育で上昇した末梢血血漿中の chol 濃度, 低下した TG 濃度は, その後 Nor 食に切り換えて 2 週間飼育したところ, chol 濃度は減少し, TG 濃度は増加した。その傾向は杜仲葉水抽出エキスを投与した HCND 群において顕著であった。HDL-chol は末梢組織から肝臓への chol の輸送に関与していることなどから抗動脈硬化作用をもつものとして重要視されている⁽²⁹⁾。そこで血漿中の HDL-chol 濃度を測定した結果, 有意差はなかったが, HC 食 2 週間飼育で低下し, その後 Nor 食に切り換えることによって Nor 群までには至らなかったが増加した。この時, 杜仲葉水抽出エキス投与による差はみられなかったが, T-chol 濃度は杜仲葉水抽出エキス投与群で HCN 群より低下していたので, T-chol に占める HDL-chol の割合は HCN 群が約 40%であったのに対し, HCND 群では約 56%となり, 杜仲葉水抽出エキスを与えることによって高くなった。

また, chol の増加は, 動脈硬化症発生の原因ともな

り, なかでも LDL-chol は惹起因子として知られている。T-chol 濃度より HDL-chol 濃度を差し引いて算出した VLDL+LDL-chol 濃度は, 杜仲葉水抽出エキスを与えた HCND 群で HCN 群より有意に低値を示した。一般に VLDL, LDL, HDL の各リポタンパク質 chol の和は T-chol に相当し, VLDL-chol は血漿 TG の約 1/5 と考えられており, LDL-chol 濃度を求める方法として Friedewald の式が用いられている⁽³⁰⁾。そこで, 結果から LDL-chol 濃度を試算してみると, HCN 群は約 37 mg/dl, HCND 群は約 13 mg/dl となり, HCND 群で著しく低値を示した。これらのことより, 杜仲葉水抽出エキスによって肝機能が回復し, LDL 受容体形成や VLDL の産生・放出がスムーズに行われるようになったために血漿中の chol 濃度が減少し, TG 濃度が上昇して Nor 群の値に近づいたのではないかと思われる。事実, HC 食で 2 週間飼育し, 白色肥大化した肝臓は, Nor 食に切り換えてから 2 週間後には赤味を帯び, chol, TG 量とも減少した。また, 同時に杜仲葉水抽出エキスを投与した HCND 群では chol, TG 量とも HCN 群よりも著しく減少し, 杜仲葉による脂肪肝改善効果が認められた。

一方, 脂肪酸合成系への影響をみるために脂肪酸合成の律速酵素である acetyl-CoA carboxylase 活性と fatty acid synthetase 活性を測定した。その結果, acetyl-CoA carboxylase 活性は HCN 群, HCND 群ともほとんど差がなかったが, fatty acid synthetase 活性は HCN 群が Nor 群より有意差はないが高値を示したのに対し, 杜仲葉水抽出エキスを投与した HCND 群は HCN 群より有意に低値を示し, 杜仲葉水抽出エキスによる脂肪酸合成の抑制が認められた。

緑茶^(20,21,31), 中国茶^(31~33), 紅茶⁽³⁴⁾, ウーロン茶^(26,28), ほうじ茶⁽³⁵⁾, ハトムギ茶^(36,37)には血中脂質上昇抑制作用があることが報告されており, その効果を

有する成分としてカテキンやカフェインがあげられている。茶葉タンニンの主要構成成分であるカテキンの主成分（一）エピガロカテキンガレートは、chol および胆汁酸の吸収ならびに再吸収を阻害し、これらの糞中への排泄を促進させることによって、血中脂質の上昇を抑制することが報告されている^(20,21,31,33)。一方、カフェインは血清 chol を低下させたり、HDL-chol を上昇させる⁽³⁸⁾ 作用や、脂肪を分解する作用⁽³⁹⁾ を有するという報告と、血中の FFA, T-chol, LDL-chol, TG を上昇させる^(40,41) という報告があり一定していない。また、食物繊維のもつ吸着作用や拡散抑制作用が、糖質や脂質代謝の改善に有効であることが報告されており、なかでもペクチン、グアガム等の水溶性食物繊維が、chol 吸収阻害による血清 chol 低下作用において有効であるとされている^(42~44)。水溶性食物繊維の作用機構については空腸部における chol 吸収の阻害⁽⁴⁵⁾、回腸部における胆汁酸再吸収の阻害⁽⁴⁶⁾ による糞中への chol、胆汁酸の排泄増加効果によると考えられている。杜仲葉はウーロン茶や煎茶と比較するとタンニン含有量は半分以上であり、カフェインは含まれていない⁽⁴⁷⁾ が、ペクチンが多く含まれており⁽⁴⁷⁾、水溶性食物繊維のもつ効果も期待できる。Metori ら⁽¹³⁾ はラットを用いて高脂肪高 chol 食に杜仲葉水抽出エキスを同時投与し、血清 chol, TG および肝臓中の TG が著しく減少したことを報告している。本実験は、杜仲葉水抽出エキスを chol や胆汁酸と同時に投与したものではなく、予め血中や組織中に chol や TG を蓄積させ、これに対して杜仲葉水抽出エキスの効果をみたものである。その結果、杜仲葉水抽出エキスは血漿中の chol を低下させ、肝臓中の chol と TG を減少させた。このことから、杜仲葉水抽出エキスは食餌からの chol、脂肪およびコラー酸の吸収を阻害して脂質の低下を促進させるだけではないと思われる。今回、糞中ステロール、胆汁酸の排泄量を測定していないのでわからないが、肝臓における chol から胆汁酸への合成が促進し、これが利用されたのち小腸での再吸収が阻害されて排泄が増加したことも肝臓中の chol が減少した一因になっているのではないかと考えられる。

杜仲葉のもつ脂肪肝改善効果には、ペクチンの腸肝循環を阻害する作用や、脂質代謝に対して直接的・間接的に作用する成分の関与も考えられるので、今後さらに詳細な検討が必要であると思われる。

要 約

ラット (Wistar 系雄) を 0.25% コラー酸および 12% ラードを含む 1% コレステロール (chol) を負荷した飼料で 2 週間飼育した。その結果、肝臓は肥大し chol と中性脂肪 (TG) の蓄積からなる脂肪肝が観察された。血漿では TG はむしろ低値を示したが、chol は正常 (Nor) 群の 1.6 倍に増加した。

そこで飼料を Nor 食に切り換え、飲み水として水を与えた HCN 群と杜仲葉水抽出エキスを与えた HCND 群に分けてさらに 2 週間飼育した。その結果、HCND 群で肝臓中の chol 量は著しく低下し、TG 量も HCN 群より HCND 群の方が有意に低値を示した。血漿においても HCND 群で chol 量は HCN 群よりも有意差はなかったが減少し、HDL-chol/T-chol 比は大きくなった。また、VLDL+LDL-chol 濃度は HCN 群より有意に低値を示した。肝臓中の acetyl-CoA carboxylase 活性は群間に差はなかったが、fatty acid synthetase 活性は HCND 群が HCN 群より有意に低く Nor 群と同程度であった。

以上の結果より、杜仲葉水抽出エキスには肝臓に蓄積された chol および TG を速やかに減少させ、脂肪肝を軽減させる効果を有することが認められた。

- (1) 李時珍：本草綱目（第 3 冊），1986—1987（1987），人民衛生出版社（北京）。
- (2) 魏・呉晋 等述，清・孫星衍 孫馮翼輯：神農本草經，43（1955），商務印書館。
- (3) Deyama, T. : *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3651—3659（1985）。
- (4) Charles, J. S., Ravikumar, P. R. and Huang F. C. : *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 5412—5413（1976）。
- (5) Deyama, T., Ikawa, T. and Nishibe, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, **33**, 3651—3657（1985）。
- (6) Deyama, T., Ikawa, T., Kitagawa, S. and Nishibe, S. : *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 523—527（1986）。
- (7) 李家実，閻王凝：中薬通報，**11**, 41—42（1986）。
- (8) 朱麗青，張黎明，貢瑞生，王景祥：中草薬，**17**, 15—17（1986）。
- (9) 難波恒雄，服部征雄，葉加南，馬永華，野村靖幸，金子周司，北村佳久，小泉保，片山和憲，盧焜：和漢医薬学会誌，**3**, 89—97（1986）。
- (10) 馬永華，葉加南，服部征雄，金子周司，野村靖幸，若木邦彦，倉茂洋一，難波恒雄：和漢医薬学会誌，**4**, 26—34（1987）。
- (11) 塩谷正勝，佐藤常男，白井弥，平敬宏，高橋周七：和漢医薬学会誌，**7**, 18—23（1990）。

- (12) 小川博, 田坂正綱, 目黒忠道, 笹川祐成: 栄食誌, **47**, 301—306 (1994).
- (13) K. Metori, S. Ohashi, S. Takahashi and T. Tamura: *Biol. Pharm. Bull.*, **17**, 917—920 (1994).
- (14) Sperry, W. M. and Webb, M.: *J. Biol. Chem.*, **187**, 97—106 (1950).
- (15) Fletcher, M. J.: *Clin. Chim. Acta*, **22**, 393—397 (1968).
- (16) Zilversmit, D. B. and Davis, A. K.: *J. Lab. Clin. Med.*, **35**, 155—160 (1950).
- (17) T. Tanabe, S. Nakanishi, T. Hashimoto, H. Ogiwara, J. Nikawa and S. Numa: *Methods in Enzymology*, Vol. 71 (c) (John M. Lowenstein ed.), 5—16 (1981), Academic Press (New York).
- (18) Carl M. Nepokroeff, M. R. Lakshmanan and John W. Porter: *Methods in Enzymology*, Vol. 35 (John M. Lowenstein ed.), 37—44 (1975). Academic Press (New York).
- (19) S. Nagaoka, Y. Kanamaru and Y. Kuzuya: *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 813—818 (1991).
- (20) 福與真弓, 原征彦, 村松敬一郎: 栄食誌, **39**, 495—500 (1986).
- (21) K. Muramatsu, M. Fukuyo and Y. Hara: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **32**, 613—622 (1986).
- (22) 石橋源次, 行実直美: 家政誌, **39**, 265—269 (1988).
- (23) 石橋源次, 石松茂子, 沖田卓雄, 堀康二: 家政誌, **45**, 579—584 (1994).
- (24) 土井佳代, 小島尚, 原田昌興, 堀口佳哉: 栄食誌, **47**, 15—22 (1994).
- (25) 辻啓介, 辻悦子, 鈴木慎次郎: 栄養誌, **33**, 153—159 (1975).
- (26) 大鶴勝, 西村公雄, 牧田登之, 荒井昌彦, 角田隆巳: 家政誌, **39**, 67—70 (1988).
- (27) 岩田多子, 稲山貴代, 加藤敏光: 栄食誌, **40**, 463—467 (1987).
- (28) 岩田多子, 稲山貴代, 三輪里見: 栄養誌, **46**, 289—298 (1988).
- (29) 佐々木憲裕, Jackson, R. L., Srivastava, L. S., Glueck, C. J., Kashyap, M. L., 斎藤康, 熊谷朗: 動脈硬化, **11**, 477—486 (1983).
- (30) 斯波真理子, 山村卓: *medicina*, **32**, 692—696 (1995).
- (31) Sano, M., Takenaka, Y., Kojima, R., Saito, S., Tomita, I., Katou, M. and Shibuya, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 221—228 (1986).
- (32) 宮川豊美, 川村一男: 医学と生物学, **103**, 213—218 (1981).
- (33) 窪村安司, 千坂武司, 松田久司, 山原篠二, 沢田徳之助, 藤村一: 日本生薬学会第32回年会講演要旨集, 19 (1985).
- (34) Srimathi, V., Seshagiri, P. B., Raju, R. and Ramakrishnan, S.: *Ind. J. Nutr. Dietet.*, **18**, 360—364 (1981).
- (35) 小柳津周, 成瀬宇平, 広田才之: 栄養誌, **47**, 25—29 (1989).
- (36) 青木みか, 辻原命子: 家政誌, **35**, 89—96 (1984).
- (37) 青木みか, 辻原命子: 家政誌, **40**, 107—113 (1989).
- (38) M. M. Callahan, M. W. Rohovsky and D. W. Yesair: *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 834—845 (1979).
- (39) M. Suzuki, Y. Shimomura and Y. Satoh: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **29**, 399—411 (1983).
- (40) Akinyanju, P. and Yudkin, J.: *Nature*, **214**, 426—427 (1967).
- (41) Patwardhan, R. V., Desmond, P. V., Johnson, R. F., Dunn, G. D., Robertson, D. H., Hoyumpa, A. M. and Schenker, S.: *Clin. Pharmacol. Ther.*, **28**, 398—403 (1980).
- (42) 辻啓介: 「食物繊維」, 印南敏, 桐山修八編, 第一出版, 東京, 1982, pp. 131—159.
- (43) Keys, A., Grande, F. and Anderson, J. T.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **106**, 555—558 (1961).
- (44) Jenkins, D. J. A., Leeds, A. R., Newton, C. and Cummings, J. H.: *Lancet*, **May 17**, 1116—1117 (1975).
- (45) 児玉俊明, 中井秀明, 桐山修八, 吉田昭: 栄食誌, **25**, 603—608 (1972).
- (46) Kiriya, S., Enishi, A. and Yura, K.: *J. Nutr.*, **104**, 69—78 (1974).
- (47) 山抱基純, 中沢慶久, 下山明美, 志摩宣行, 松田光代, 紙野康美: 日立造船技報, **51**, 34—38 (1990).